

## 但馬牛における経済形質に関わるゲノム解析 ～ 鶴山土井における QTL の効果検証 ～

秋山敬孝\*・龍田 健\*\*・溝口 康\*\*\*・西村翔太\*\*\*\*・杉本喜憲\*\*\*\*\*

### 要 約

谷福土井において検出された4番染色体, 14番染色体及び21番染色体の量的形質座(QTL: quantitative trait locus)に着目し, 谷福土井と同じ優良ハプロタイプを持つ鶴山土井の優良ハプロタイプが枝肉形質に及ぼす効果について検討した.

- 1 4番染色体及び21番染色体では有意な効果は認められなかった.
- 2 14番染色体の47cM付近に, chromosome-wise 0.1% レベルで有意な枝肉重量のQTLが検出された. QTLのハプロタイプ置換効果は枝肉重量で38.8kgであった.
- 3 これらのことから14番染色体のQTLは, 谷福土井と同様に有効であると考えられた.

### Quantitative Trait Loci Analysis for Carcass Traits in a Half-Sib Family from Tsuruyama-doi of Tajima Strain of Japanese Black Cattle

Takayuki AKIYAMA, Ken TATSUDA, Yasushi MIZOGUCHI, Shota NISHIMURA and Yoshikazu SUGIMOTO

### Summary

We have previously mapped three quantitative trait loci (QTL) affecting beef marbling score on bovine chromosome 4 (BTA4) and BTA21, and carcass weight on BTA14 using a large half-sib family originating from Tanifuku-doi, who shared superior identical by descent (IBD) Q haplotype of the three QTL with Tsuruyama-doi. In this study, effects of the three IBD Q haplotypes of Tsuruyama-doi on carcass traits were verified.

No significant effect was found in BTA4 and BTA21.

Significant QTL for carcass weight was detected at the position of 47 cM on BTA14 with 0.1% chromosome-wise significance level. The haplotype substitution effect on carcass weight was 38.8 kg.

This QTL seemed to be same as one detected previously in Tanifuku-doi.

キーワード: ウシ, 黒毛和種, QTL解析, マイクロサテライトマーカー, 枝肉形質

### 緒 言

黒毛和種牛の増体や枝肉形質等の経済形質は量的形質と呼ばれ, 多数の小さな効果を持つ遺伝子の発現により成り立つと同時に, 飼養管理など, 環境の影響を強く受けるために, 単一遺伝子に支配される質的な形質(遺伝性疾患など)に比べ, 育種改良には多くの困難が伴う.

近年, 量的形質を支配する遺伝子を個々の遺伝子の効果として考えるのではなく, ひとまとめにしたポリジーンの働きとしてとらえ, 統計育種学の手法の一つである Best Linear Unbiased Prediction (BLUP) 法による育種価評価を用いることにより, 大きな成果を上げてきた.

また, 分子生物学の発展にともない, DNAマーカーと経済形質との連鎖解析によって, 経済形質に関与する遺伝子が存在する染色体領域, すなわち QTL (QTL:

2009年8月31日受理

\*兵庫県立農林水産技術総合センター北部農業技術センター

\*\*兵庫県立農林水産技術総合センター畜産技術センター

\*\*\*明治大学農学部

\*\*\*\*社団法人畜産技術協会附属動物遺伝研究所

quantitative trait locus) を同定する試みがなされ、多くの枝肉重量や脂肪交雑等に関するQTLが報告されている<sup>2-6)</sup>。

これまで、県有種雄牛である谷福土井及び照長土井について、大規模父方半兄弟家系を用いた、枝肉重量や脂肪交雑等の枝肉形質についてQTL解析を行い、谷福土井で4番染色体(脂肪交雑:置換効果0.8)、14番染色体(枝肉重量:置換効果18.9)及び21番染色体(脂肪交雑:置換効果0.7)に有意なQTLを検出している<sup>1)</sup>。

今回、谷福土井に検出された3つのQTLの優良ハプロタイプについて、谷福土井と母系を共通とし、同じ優良ハプロタイプを持つ鶴山土井の大規模父方半兄弟家系によるQTL解析を行い、優良ハプロタイプが肥育息牛の枝肉重量及び脂肪交雑に及ぼす効果について検討した。

## 材料及び方法

### 1 材料

鶴山土井の精液及び同種雄牛の去勢肥育息牛177頭の腎臓周囲脂肪からDNA抽出キット(AccuPrepジェノミックDNAエクストラクションキット, BIONEER社製, 韓国)を用いてDNAを抽出した。濃度は全て20ng/ulに調整した。肥育牛の脂肪サンプルは神戸市中央卸売市場西部市場及び加古川地方食肉卸売市場の出荷牛から採材し、枝肉形質のデータは社団法人日本食肉格付協会提供のものを使用した。

### 2 解析に用いたマイクロサテライトマーカーの選定及びQTL解析

鶴山土井がどちらの遺伝子型を息牛に伝えたかを判定するため、アリルがヘテロのマイクロサテライトマーカー(以下MSと呼ぶ)を選定する必要がある。そこで4番染色体70個、14番染色体60個、21番染色体64個のMSを染色体全域にプロットするように選定し、鶴山土井のアリルがヘテロであるMSを選定した。

DNA解析は各MSについてPCRを実施し、DNAシーケンサー(Applied Biosystem 3130x1, Applied Biosystem社製, 米国)を用いて電気泳動し、遺伝子型判定には解析ソフト(Gene Mapper Ver.4.0, Applied Biosystem社製, 米国)を使用した。

QTL解析は、4番染色体と21番染色体については脂肪交雑、14番染色体については枝肉重量について、社団法人畜産技術協会附属動物遺伝研究所が作成した解析ソフト(Glissad Ver.1.11.4 build 219)を用いて行った。

### 3 統計処理

鶴山土井からQTLの優良ハプロタイプ(Q)を受け継いだ肥育息牛と受け継いでいない(qを受け継いだ)肥育息牛の枝肉形質データについて、等分散性を確認後、Student-t検定により平均の差を検定した。

## 結 果

4番染色体において、70個のMSのうち鶴山土井の遺伝子型がヘテロであったMS 36個を用いて解析したところ、chromosome-wise 5%以下の有意な領域は検出されなかった(図1)。

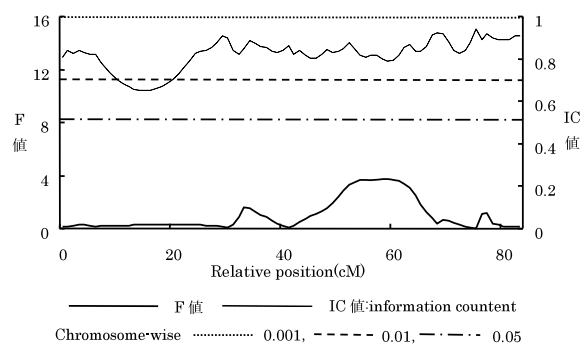


図1 4番染色体のF値及びIC値

同様に21番染色体についても64個のMSのうち、ヘテロのMSを40個用いて解析したところ有意な領域は検出されなかった(図2)。

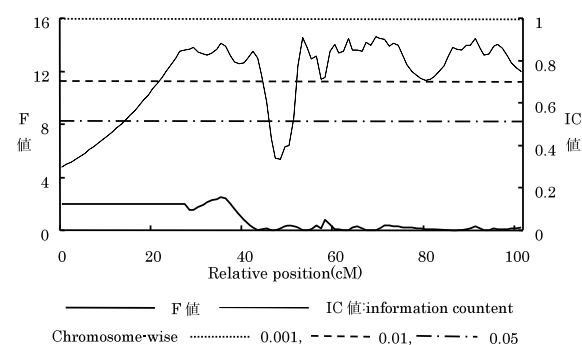


図2 21番染色体のF値及びIC値

14番染色体において、60個のMSのうち、鶴山土井の遺伝子型がヘテロであった32個のMSを用いて解析したところ、47cM付近(95%信頼区間31-40cM, 44-54cM)にchromosome-wise 0.1%レベルでF値46.8のQTLが検出された(図3)。平均マーカー情報量(IC: information content)は0.91であった。このQTLの優良ハプロタイプの置換効果は38.8kg、遺伝的寄与率は

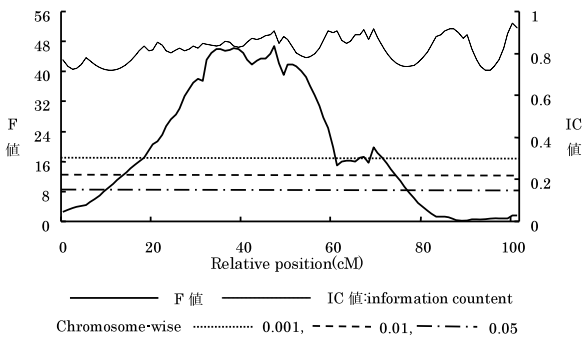


図3 14番染色体のF値及びIC値

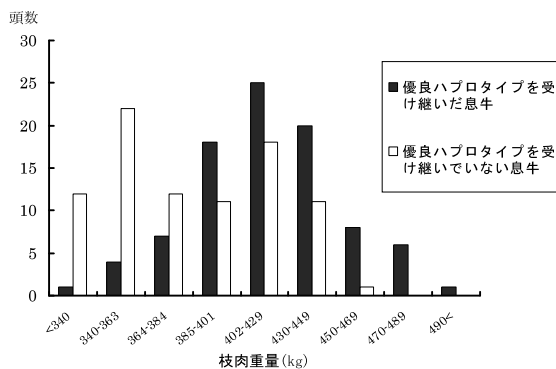


図4 QTLハプロタイプの違いによる枝肉重量の分布

0.20であった。

次に検出されたQTL領域におけるMSを用いて、ハプロタイプの違いによる効果を検証した(図4)。ハプロタイプの判明した177頭の枝肉重量において14番染色体のQTLの優良ハプロタイプ(Q)を鶴山土井から受け継いだ息牛は83頭、受け継いでいない(qを受け継いだ)息牛は94頭であった。それぞれの平均値及び標準偏差は $418.6 \pm 34.0$ 及び $382.8 \pm 41.1$ であり、有意差( $P < 0.001$ )が認められた(表1)。

表1 父牛由来ハプロタイプ別枝肉重量

| ハプロタイプ | 頭数 | 平均値   | 標準偏差       |
|--------|----|-------|------------|
| Q      | 83 | 418.6 | $\pm 34.0$ |
| q      | 94 | 382.8 | $\pm 41.1$ |

両群間に有意差有り ( $P < 0.001$ )

### 考 察

鶴山土井は谷福土井の兄弟牛である第2安鶴土井を父にもつ種雄牛である。これまでの研究により、今回効果検証を行った3つのQTLの優良ハプロタイプは、祖母牛由来であることが判明している<sup>5)</sup>。

4番染色体及び21番染色体の脂肪交雑のQTLについては、他県の複数の家系解析で検出されており、MSを追加した相関解析では4番染色体は約720kb、21番染色体は約3.2Mbの領域に絞り込まれ、これらのQTLの相互作用は相加的であることが分かっている<sup>5),6)</sup>。今回、鶴山土井の解析で効果が認められなかった原因は、解析した肥育息牛の母牛から受け継いだハプロタイプの影響が考えられる。今後サンプル数を増やし再度解析を行うとともに、同系統の他の種雄牛についても効果検証を行う必要がある。

14番染色体のQTLについても同様に、他県の複数の家系で検出されており(7家系 置換効果 $15.4-24.7\text{kg}$ )<sup>1),5),6)</sup>、MSを追加した相関解析では1.1Mbの領域に絞り込まれている<sup>3)</sup>。今回の解析では枝肉重量に対して有意な効果が認められ、このQTLの優良ハプロタイプ情報は後継種雄牛の選抜に利用可能であると考えられた。

解析した3つのQTLは、社団法人畜産技術協会附属動物遺伝研究所との共同研究により、責任遺伝子の特定が進められている<sup>5)</sup>。今後これらQTLの責任遺伝子が特定され、ゲノムDNAの塩基配列レベルでの遺伝子型判定が可能となれば、系統に関係なく遺伝子型情報を利用することが可能となり、広く育種改良に活用することができる。

### 謝 辞

本研究を実施するにあたり、ご指導ご助言を賜りました(社)畜産技術協会附属動物遺伝研究所の方々に深謝いたします。

### 引 用 文 献

- Mizoguchi Y., Watanabe T., Fujinaka K., Iwamoto E., Sugimoto Y. (2006): Mapping of quantitative trait loci for carcass traits in a Japanese Black (Wagyu) cattle population: Anim Genet. 37, 51-54.
- Mizoshita K., Watanabe T., Hayashi H., Kubota C., Yamakuchi H., Todoroki J., Sugimoto Y. (2004): Quantitative trait loci analysis for growth and carcass traits in a half-sib family of purebred Japanese Black (Wagyu) cattle: J Anim Sci. 82, 3415-3420
- Mizoshita K, Takano A, Watanabe T, Takasuga A, Sugimoto Y. (2005): Identification of a 1.1-Mb region for a carcass weight QTL on bovine Chromosome 14: Mamm Genome 16, 532-537
- 社団法人畜産技術協会(2000): 家畜ゲノム解析と

## 新たな家畜育種戦略

社団法人畜産技術協会（2008）：牛ゲノム有効活用  
促進事業（肉用牛DNA育種実証事業）実施報告書

Takasuga A., Watanabe T., Mizoguchi Y., Hirano  
T., Ihara N., Takano A., Yokouchi K., Fujikawa A.,  
Chiba K., Kobayashi N., Tatsuda K., Oe T., Furu-

kawa-Kuroiwa M., Nishimura-Abe A., Fujita T., In-  
oue K., Mizoshita K., Ogino A., Sugimoto Y. (2007)  
： Identification of bovine QTL for growth and car-  
cass traits in Japanese Black cattle by replication  
and identical-by-descent mapping : Mamm Genome  
18, 125-136